ISSN 0233-7657. Biopolymers and Cell. 2010. Vol. 26. N 5

Чи є адекватним іонізаційний механізм спонтанних транзицій? Квантово-хімічне дослідження

О. О. Броварець[1, 2], Р. О. Жураківський[1], Д. М. Говорун[1, 2]

[1]Інститут молекулярної біології і генетики НАН України
Вул. Академіка Заболотного, 150, Київ, Україна, 03680

[2]Інститут високих технологій Київського національного університету імені Тараса Шевченка
Просп. Академіка Глушкова, 2, корп. 5, Київ, Україна, 03127

brovarets@list.ru

***Мета**. Використовуючи найпростіші молекулярні моделі – пари основ ДНК, одна з яких є іонізованою, та електронейтральні й іонізовані ДНК-подібні конформери канонічних нуклеозидів, теоретично дослідити адекватність іонізаційного механізму виникнення спонтанних транзицій. **Методи**. Неемпірична квантова хімія, фізико-хімічна кінетика, аналіз топології електронної густини за Бейдером. **Результати**. Показано, що на рівні пар основ іонізаційний механізм виникнення транзицій не гарантує жодних переваг у порівнянні з іншими механізмами, представленими в літературі. Проте протонування/депротонування основ у складі будь-якого канонічного нуклеозиду суттєво збурює ДНК-подібні конформації останнього. **Висновки**. Іонізаційний механізм не може претендувати на вичерпне пояснення природи спонтанних транзицій.*

Ключові слова: спонтанні транзиції, іонізаційний механізм, неправильні пари основ ДНК, водневі зв’язки, квантово-хімічні розрахунки.

Вступ. Проблема стабільності геному є однією з центральних задач фізико-хімічної біології [1, 2]. У процесі її тривалого дослідження окреслилися, як мінімум, три можливих механізми геномної мінливості – таутомерний [3, 4], неправильне спарювання основ у канонічній таутомерній формі [5] та іонізаційний [6, 7], коли відбувається неправильне спарювання основ у протонованій чи депротонованій формах. Нещодавно нами виявлено нові фізико-хімічні механізми виникнення спонтанних транзицій (помилок реплікації [8, 9] і включення [10]) та трансверсій [11]. Вони свідчать про адекватність таутомерних механізмів нестабільності геному та їхній тісний зв’язок із утворенням неправильних (зміщених) пар основ у канонічній таутомерній формі в активному центрі високоточної реплікативної ДНК-полімерази.

Ця робота є логічним продовженням зазначених досліджень [8–13] та покликана відповісти на запитання стосовно адекватності іонізаційного механізму виникнення спонтанних транзицій [6, 7].

Матеріали і методи. Об’єктами дослідження слугували воднево-зв’язані пари основ ДНК у протонованій і депротонованій формах, а також ДНК-подібні конформери електронейтральних і протонованих та депротонованих по основі канонічних 2'-дезоксирибонуклеозидів. Предмет дослідження – взаємне перетворення вищезгаданих пар основ ДНК та зміна конформації нуклеозидів при протонуванні чи депротонуванні їхніх основ.

Квантово-хімічні розрахунки геометричної та електронної будови досліджуваних об’єктів проведено на рівні теорії DFT B3LYP/6-311++G(d,p) у вакуумному наближенні, яке для цієї задачі є адекватним [14–17]. Енергію Гіббса визначали так званими розрахунками в одній точці (single point calculations) на рівні теорії MP2/6-311++G(2df, pd) з використанням геометрії, отриманої методом DFT (рівень теорії MP2/6-311++G(2df,pd)//B3LYP/6-311++G(d,p)). Перехідні стани перетворення пар основ ДНК ідентифікували методом STQN [18, 19]. Усі оптимізовані структури перевірено на стійкість за відсутністю уявних частот у їхніх коливальних спектрах, обчислених у гармонійному наближенні. Енергію взаємодії у парах основ визначали на рівні теорії MP2/6-311++G(2df,pd)//B3LYP/6-311++G(d,p) з урахуванням так званої BSSE-поправки на суперпозицію функцій базисного набору [20]. Перетворення реагента в продукт реакції і навпаки вивчали в рамках концепції внутрішньої координати реакції (IRC). Усі дослідження проведено із застосуванням програмного пакету «GAUSSIAN03» для платформи Win32 [21].

Розподіл електронної густини у парах основ та перехідних станах їхнього взаємного перетворення аналізували, використовуючи теорію «Атомів у молекулах» Бейдера [22] та хвильові функції, одержані на рівні теорії B3LYP/6-311++G(d,p). Н-зв'язки [23] встановлювали за наявністю критичної точки (3, –1) між двома валентно незв'язаними атомами. Топологію електронної густини вивчали за допомогою програмного пакету AIM2000 [24], використовуючи стандартні опції. У роботі застосовано стандартну нумерацію атомів.

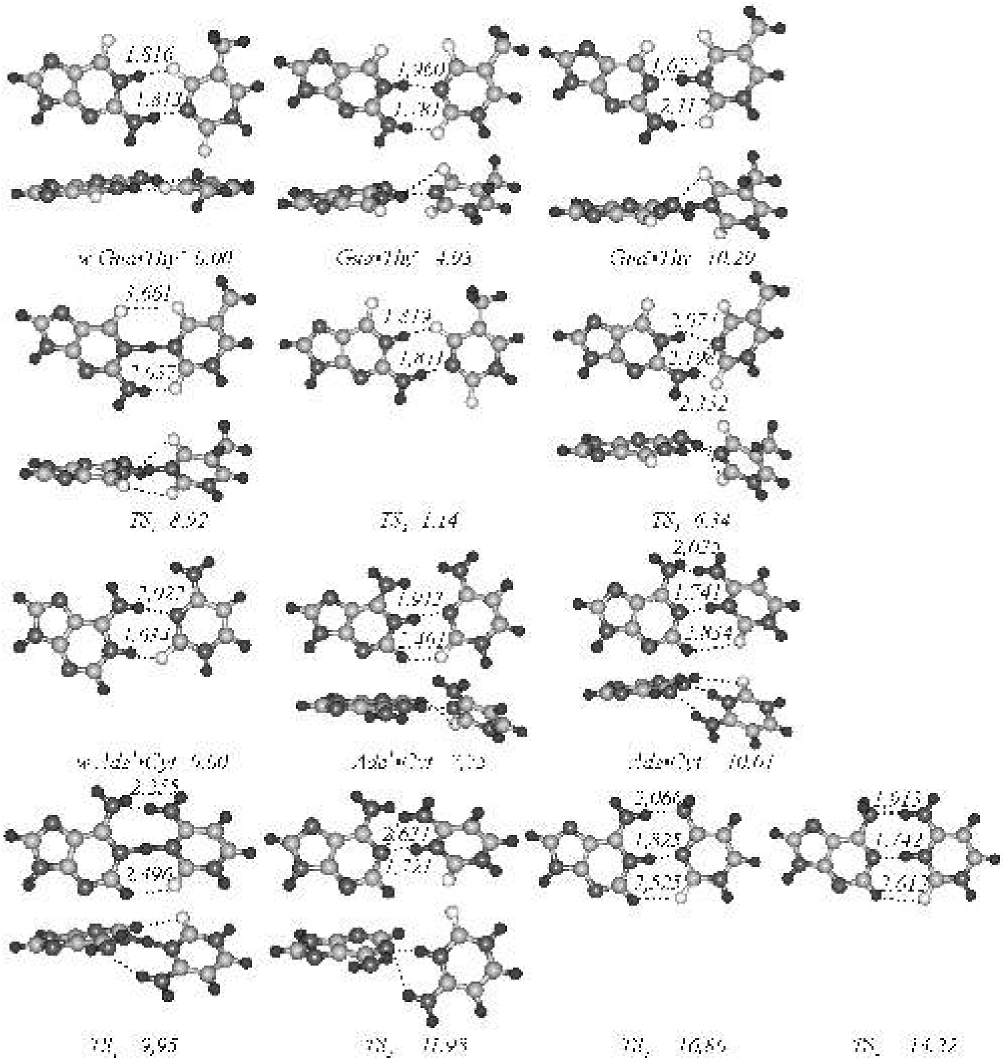
Результати і обговорення. Отримані результати наведено на рисунку та в табл. 1–3. Їхній аналіз дозволяє зробити такі найголовніші висновки.

За відносною енергією Гіббса (її значення за стандартних умов у ккал/моль подано у дужках) неправильні пари основ за участі гуаніну (Gua) і тиміну (Thy) у депротонованій формі утворюють ряд (рисунок, табл. 1, 2): Gua^{-} Thy (10,29) > Gua Thy^{-} (4,93) > *w* Gua Thy^{-} (0,00). При цьому пара основ Gua^{-} Thy є нестійкою і через перехідний стан TS_1 з енергією активації Гіббса 8,92 ккал/моль (рисунок, табл. 1, 2) безбар'єрно переходить у пару Gua Thy^{-}, яка теж нестійка і через перехідний стан TS_3 з енергією активації Гіббса 6,34 ккал/моль перетворюється у зміщену пару *w* Gua Thy^{-}, яка є глобальним мінімумом (ΔG = 0,00 ккал/моль). Таким чином, апеляція дослідників до пар основ ДНК Gua Thy^{-} і Gua^{-} Thy як до структур, відповідальних за виникнення спонтанних транзицій, що традиційно робиться в літературі [6], є невиправданою з фізико-хімічної точки зору.

Вочевидь, на цю роль може претендувати лише енергетично найвигідніша зміщена пара основ wGua Thy^{-} (рисунок), геометрична будова якої суттєво відрізняється від Вотсон-Криківських. Вона є стабільнішою (ΔG_{int}= –25,63 ккал/моль), ніж Вотсон-Криківська пара основ Gua Cyt (ΔG_{int}= –15,97) і охоплена двома Н-зв'язками N1H…O4 і N2H…$N3^{-}$ з енергіями 6,62 і 7,68 ккал/моль відповідно (при цьому внесок Н-зв'язків в енергію її стабілізації становить 38,1 % (табл. 2)). Геометричною її особливістю є неплощинність (N3C2N2H = 6,6°; N1C2N2H = 11,4°; C2N2HN3 (Cyt) = 167,0°), зумовлена пірамідальним характером амінного фрагмента $C2N2H_2$ Gua: взаємне перетворення енантіомерів цієї пари відбувається через площинний перехідний стан TS_2 з невеликою енергією активації Гіббса 1,14 ккал/моль, що дає змогу за наявності стекінгових взаємодій із сусідніми парами розглядати її як ефективно планарну.

У той же час пара основ ДНК *w* Gua Thy^{-} не може бути адаптована в розумному інтервалі енергій, що ненабагато перевищують *kT* за стандартних умов, до розмірів Вотсон-Криківських пар. Водночас протонування цієї пари (тобто відновлення її електронейтрального статусу) за місцем O6 таким чином, щоб гідроксил $O6^{+}H$ мав *цис*-орієнтацію до сусіднього зв'язку C6N1, провокує безбар'єрний її перехід у пару Gua Thy, квазіізоморфну Вотсон-Криківським. І, тим не менше, уявляти собі процес виникнення спонтанних транзицій як низку послідовних подій – депротонування основи нуклеотиду на вході у суттєво гідрофобний центр ДНК-полімерази, утворення в останньому пари *w* Gua Thy^{-} за участі депротонованої основи, а потім її протонування у вищеописаний спосіб за місцем O6, що супроводжується безбар'єрним переходом у пару основ Gua* Thy за участі мутагенного таутомера, – є дещо штучною реконструкцією, яка не забезпечує переваг порівняно з процесом, коли в активному центрі утворюється пара Gua* Thy, одна із основ якої таутомеризується на вході в активний центр ДНК-полімерази водним мікрооточенням [25].

Неправильна пара аденін (Ade) протонований цитозин (Cyt^{+}) (ΔG = 10,01 ккал/моль) є суттєво неплощинною структурою (рисунок, табл. 1, 2). Взаємне перетворення її енантіомерів відбувається двома топологічно й енергетично нееквівалентними шляхами – обертанням однієї основи відносно іншої навко-



Геометрична будова досліджених пар нуклеотидних основ ДНК за участі основ Gua, Gua^{-}, Thy, Thy^{-}, Ade, Ade^{+}, Cyt, Cyt^{+} та перехідних станів їхнього взаємного перетворення (літерою *w* позначено воблівські, тобто зміщені пари); світлі кружочки – атоми кисню; сірі – атоми вуглецю; темні – атоми водню; чорні – атоми азоту. Пунктиром виділено Н-зв'язки АН…В (біля кожного Н-зв'язку наведено його довжину Н…В в Å). Для кожної структури вказано її відносну енергію Гіббса у ккал/моль за стандартних умов (див. також табл. 1, 2); біля непланарних комплексів подано їхню «ортогональну» проекцію

ло Н-зв'язку $N3^{+}H…N1$ з енергією 9,33 ккал/моль у рівноважному стані (табл. 1) через непланарний перехідний стан TS_2 з енергією активації Гіббса 11,98 ккал/моль або повертанням аміногрупи Ade навколо екзоциклічного зв'язку C6N6 через плоскосиметричний перехідний стан TS_4 з енергією активації Гіббса 14,22 ккал/моль. Він стабілізується трьома Н-зв'язками N4H…N6, $N3^{+}H…$ N1 та C2H…O2 з енергіями 7,05; 9,19 та 1,28 ккал/моль відповідно. Водночас пара Ade Cyt^{+} є нестійкою і перенесенням протона від атома N3 Cyt^{+} на атом N1 Ade уздовж Н-зв'язку $N3^{+}H$...N1 через неплощинний перехідний стан TS_1 з енергією активації Гіббса 9,95 ккал/моль перетворюється на зміщену пару Ade^{+} Cyt, енергетично вигіднішу на 10,01 ккал/моль. Ця пара (саме з нею дослідники традиційно пов'язують виникнення спонтанних транзицій Ade Thy → Gua Cyt [6]) є найстабільнішою з-поміж досліджених нами пар (ΔG_{int} = = –28,20 ккал/моль); її геометрична будова суттєво відрізняється від канонічних Вотсон-Криківських пар основ ДНК. Більше того, її не можна адаптувати у розумному діапазоні енергій, що несуттєво перевищує *kT*, до Вотсон-Криківських розмірів.

Привабливими у цьому сенсі є плоскосиметричні перехідні стани TS_3 (стабілізується трьома Н-зв'язками N6H…N4; $N1^{+}H…N3$ та C2H…O2 з енергіями 5,24; 7,15 та 1,56 ккал/моль відповідно) і TS_4 (стабілізується трьома Н-зв'язками N4H…N6; $N3^{+}H…N1$ та C2H…O2 з енергіями 7,05; 9,19 та 1,28 ккал/моль відповідно) з енергіями активації Гіббса 16,80 і 14,22 ккал/моль відповідно, квазіізоморфні Вотсон-Криківським парам: N9H9H1 = = 54,9°; N3H3H9 = 62,1°; H1H9 = 9,82 Å для TS_3 та N9H9H1 = 55,4°; N3H3H9 = 57,8°; H1H9 = 9,93 Å

Таблиця 1
Електронно-топологічні, геометричні, спектрально-коливальні та енергетичні характеристики міжмолекулярних водневих зв'язків у досліджених парах основ ДНК за участі Gua, Gua^{-}, Thy, Thy^{-}, Ade, Ade^{+}, Cyt, Cyt^{+} і перехідних станах TS їхнього взаємного перетворення (див. також рис. 1)

Комплекс	Н-зв'язок АН...В	ρ, ат. од.	Δρ, ат. од.	100 ε	Δ*q*	$d_{A...B}$, Å
w Gua Thy^{-}	N1H^{Gua}…O4^{Thy-}	0,034	0,110	3,86	0,309	2,855
	N2H^{Gua}…N3$^{-\ Thy-}$	0,042	0,097	7,69	0,352	2,855
Gua·Thy^{-}	N1H^{Gua}…N3$^{-\ Thy-}$	0,030	0,078	6,38	0,461	3,001
	N2H^{Gua}…O2$^{\ Thy-}$	0,038	0,118	4,57	0,148	2,815
Gua^{-} · Thy	N3H$^{\ Thy}$…N1$^{-\ Gua-}$	0,067	0,079	4,90	0,622	2,729
	N2H^{Gua-}…O2$^{\ Thy}$	0,018	0,062	4,45	0,047	3,127
TS$_{1}$	O6^{Gua}…O4^{Thy} (c)	0,002	0,010	5,20	–	–
	N2H^{Gua}…O2$^{\ Thy}$	0,021	0,073	4,68	–	3,055
TS$_{2}$	N1H^{Gua}…O4$^{\ Thy-}$	0,034	0,109	3,91	0,315	2,857
	N2H^{Gua}...N3^{-Thy-}	0,042	0,097	7,78	0,411	2,852
TS$_{3}$	N1H^{Gua}…N3$^{-\ Thy-}$	0,023	0,067	6,17	0,406	3,105
	N2H^{Gua}…N3$^{-\ Thy-}$	0,018	0,056	3,20	0,166	3,218
	N2H^{Gua}…O2$^{\ Thy-}$	0,012	0,041	4,80	0,166	3,342
w Ade^{+} Cyt	N6H$^{\ Ade+}$…N3$^{\ Cyt}$	0,025	0,073	7,07	0,205	3,050
	N1^{+}H$^{\ Ade+}$…O2$^{\ Cyt}$	0,052	0,148	2,82	0,240	2,685
Ade^{+} Cyt	N1^{+}H$^{\ Ade+}$…N3$^{\ Cyt}$	0,032	0,084	4,60	0,280	2,954
	C2H$^{\ Ade+}$…O2$^{\ Cyt}$	0,012	0,042	25,26	0,029	3,483
Ade Cyt^{+}	N4H$^{\ Cyt+}$…N6$^{\ Ade}$	0,025	0,071	4,80	0,097	3,061
	N3^{+}H$^{\ Cyt+}$…N1$^{\ Ade}$	0,050	0,093	6,04	0,241	2,804
	C2H$^{\ Ade}$…O2$^{\ Cyt+}$	0,005	0,015	9,07	0,039	3,919
TS$_{1}$	N4H$^{\ Cyt}$…N6$^{\ Ade}$	0,016	0,047	9,20	–	3,270
	C2H$^{\ Ade}$…O2$^{\ Cyt}$	0,009	0,030	9,83	–	3,580
TS$_{2}$	N4H$^{\ Cyt+}$ …N1$^{\ Ade}$	0,008	0,026	96,19	0,037	3,643
	N3^{+}H$^{\ Cyt+}$…N1$^{\ Ade}$	0,054	0,092	4,48	0,423	2,791
TS$_{3}$	N6H$^{\ Ade+}$…N4$^{\ Cyt}$	0,024	0,068	3,54	0,171	3,091
	N1^{+}H$^{\ Ade+}$...N3$^{\ Cyt}$	0,040	0,096	5,75	0,305	2,867
	C2H$^{\ Ade+}$…O2$^{\ Cyt}$	0,008	0,028	4,56	0,034	3,608
TS$_{4}$	N4H$^{\ Cyt+}$ …N6$^{\ Ade}$	0,034	0,084	3,05	0,160	2,952
	N3^{+}H$^{\ Cyt+}$…N1$^{\ Ade}$	0,050	0,094	5,56	0,360	2,804

Закінчення табл. 1

Комплекс	Н-зв‘язок АН...В	$d_{H...B}$, Å	АН...В, град	Δd_{AH}, Å	Δν, см$^{-1}$	E_{HB}, ккал/моль
w Gua Thy^{-}	N1H^{Gua}…O4^{Thy-}	1,816	174,7	0,027	442,0	6,62
	N2H^{Gua}…N3$^{-\ Thy-}$	1,813	178,0	0,033	580,9	7,68
Gua·Thy^{-}	N1H^{Gua}…N3$^{-\ Thy-}$	1,960	167,4	0,029	481,4	6,93
	N2H^{Gua}…O2$^{\ Thy-}$	1,781	175,1	0,025	439,4	6,59
Gua^{-} · Thy	N3H$^{\ Thy}$…N1$^{-\ Gua-}$	1,627	174,2	0,093	1393,8	12,14
	N2H^{Gua-}…O2$^{\ Thy}$	2,112	165,9	0,006	94,0	2,43
TS$_1$	O6^{Gua}…O4^{Thy} (c)	–	–	–	–	0,45
	N2H^{Gua}…O2$^{\ Thy}$	2,037	155,8	–	–	4,45*
TS$_2$	N1H^{Gua}…O4$^{\ Thy-}$	1,819	174,8	0,026	437,2	6,58
	N2H^{Gua}...N3^{-Thy-}	1,811	178,0	0,033	581,5	7,68
TS$_3$	N1H^{Gua}…N3$^{-\ Thy-}$	2,074	159,6	0,020	121,7	2,98
	N2H^{Gua}…N3$^{-\ Thy-}$	2,198	146,8	0,011	352,9	3,35**
	N2H^{Gua}…O2$^{\ Thy-}$	2,322	143,5	0,011	352,9	2,49**
w Ade^{+} Cyt	N6H$^{\ Ade+}$…N3$^{\ Cyt}$	2,022	177,2	0,019	337,0	5,69
	N1^{+}H$^{\ Ade+}$…O2$^{\ Cyt}$	1,634	177,6	0,037	628,1	8,00
Ade^{+} Cyt	N1^{+}H$^{\ Ade+}$…N3$^{\ Cyt}$	1,913	180,0	0,027	461,3	6,77
	C2H$^{\ Ade+}$…O2$^{\ Cyt}$	2,401	118,3	–0,001	–20,8	2,28*
Ade Cyt^{+}	N4H$^{\ Cyt+}$…N6$^{\ Ade}$	2,035	167,0	0,016	303,3	5,36
	N3^{+}H$^{\ Cyt+}$…N1$^{\ Ade}$	1,741	171,8	0,048	839,1	9,33
	C2H$^{\ Ade}$…O2$^{\ Cyt+}$	2,834	128,1	–0,001	18,2	0,83
TS$_1$	N4H$^{\ Cyt}$…N6$^{\ Ade}$	2,255	153,5	–	–	2,64*
	C2H$^{\ Ade}$…O2$^{\ Cyt}$	2,496	127,4	–	–	1,72*
TS$_2$	N4H$^{\ Cyt+}$ …N1$^{\ Ade}$	2,631	131,0	0,001	22,4	1,40*
	N3^{+}H$^{\ Cyt+}$…N1$^{\ Ade}$	1,721	169,6	0,054	919,7	9,79
TS$_3$	N6H$^{\ Ade+}$…N4$^{\ Cyt}$	2,066	179,7	0,016	292,3	5,24
	N1^{+}H$^{\ Ade+}$...N3$^{\ Cyt}$	1,825	176,8	0,028	509,3	7,15
	C2H$^{\ Ade+}$…O2$^{\ Cyt}$	2,525	129,3	0,000	–20,8	1,56*
TS$_4$	N4H$^{\ Cyt+}$ …N6$^{\ Ade}$	1,913	179,9	0,028	496,3	7,05
	N3^{+}H$^{\ Cyt+}$…N1$^{\ Ade}$	1,742	178,4	0,047	815,6	9,19
	C2H$^{\ Ade}$…O2$^{\ Cyt+}$	2,612	134,0	–0,001	–21,1	1,28*

П р и м і т к а. ρ і Δρ – значення електронної густини і лапласіану електронної густини у критичній точці відповідно; ε – еліптичність; Δ*q* – зміна заряду Міллікена на атомі водню при утворенні Н-зв’язку АН…В; E_{HB} – енергія Н-зв’язку, розрахована за методом Йогансена [27]; $d_{A...B}$, $d_{H...B}$ – відстань між атомами А і В та Н і В відповідно, які беруть участь у Н-зв’язку; АН…В – кут Н-зв’язування; Δν – зсув частоти валентного коливання ν(АН) при втягуванні групи АН у Н-зв’язок; Δd_{AH} – подовження хімічного зв’язку АН при утворенні Н-зв’язку АН…В. Енергію біфуркативних Н-зв’язків, позначених двома зірочками, розраховано з урахуванням співвідношення їхніх значень ρ [26]; енергію Н-зв’язків, позначених зірочкою та Ван-дер-Ваальсівського контакту (с), визначено за формулою з роботи [26]; *w* – воблівська, тобто зміщена пара.

Таблиця 2

Енергетичні характеристики (у ккал/моль за стандартних умов) досліджених пар основ ДНК за участі Gua, Gua^-, Thy, Thy^-, Ade, Ade^+, Cyt, Cyt^+ та перехідних станів їхнього взаємного перетворення

Комплекс	ΔG	$\sum E_{HB}$	$-\Delta E_{int}$	$-\frac{\sum E_{HB}}{E_{int}}$, %	$-\Delta G_{int}$
w Gua Thy^-	0,00	14,29	37,53	38,1	25,63
Gua Thy^-	4,93	13,53	32,87	41,2	20,12
Gua^- Thy	10,29	14,57	21,23	68,6	10,03
TS_2	1,14	14,26	37,71	37,8	24,80
TS_3	6,34	8,82	30,83	28,6	18,34
w Ade^+ Cyt	0,00	13,69	40,36	33,9	28,20
Ade^+ Cyt	7,75	9,05	31,79	28,5	20,07
Ade Cyt^+	10,01	15,51	30,49	50,9	16,32
TS_2	11,98	11,19	26,27	42,6	12,70
TS_3	16,80	13,95	39,36	35,4	25,76
TS_4	14,22	17,52	37,40	46,9	22,88

П р и м і т к а. ΔG – відносна енергія Гіббса; $\sum E_{HB}$ – сумарна енергія міжмолекулярних Н-зв'язків; $-\Delta E_{int}$ – електронна енергія взаємодії основ у парах; $-\Delta G_{int}$ – енергія Гіббса взаємодії основ у парах.

Таблиця 3

Порівняння структурних властивостей електронейтральних та іонізованих ДНК-подібних AI- і BI-конформерів канонічних 2'-дезоксирибонуклеозидів (значення кутів P, ν_{max}, χ, β, γ, δ, ε наведено у град)

Форма ДНК	AI							
Нуклеозид	dCyt	$dCyt^+$	dAde	$dAde^+$	dThy	$dThy^-$	dGua	$dGua^-$
P	14,7	12,9	11,3	10,4	17,3	50,1	11,8	25,1
ν_{max}	34,1	31,4	33,1	30,5	33,5	36,2	32,4	34,5
χ	–161,5	–159,7	–146,6	–146,8	–155,0	–114,1	–142,7	–116,0
β	–179,4	–171,9	171,3	–176,6	177,0	48,8	166,7	52,4
γ	54,4	57,2	51,4	53,8	53,2	63,1	50,0	60,8
δ	83,6	87,9	85,6	89,2	84,1	83,8	86,4	84,8
ε	–169,9	–161,5	–162,4	–156,2	–165,6	–171,7	–159,0	–167,5
l, Å	1,485	1,529	1,467	1,498	1,488	1,426	1,465	1,430
Форма ДНК	BI							
Нуклеозид	dCyt	$dCyt^+$	dAde	$dAde^+$	dThy	$dThy^-$	dGua	$dGua^-$
P	158,2	166,8	167,2	174,5	160,5	86,1	168,6	105,5
ν_{max}	33,4	32,4	32,5	32,2	33,4	38,8	32,7	38,7
χ	–146,8	–138,5	–123,3	–120,8	–127,5	–117,2	–119,4	–112,8
β	–177,8	–166,9	176,5	–170,1	–179,8	49,2	173,1	51,9
γ	53,7	57,8	51,3	53,6	51,8	63,9	50,2	62,3
δ	138,0	142,4	141,6	144,9	139,3	93,5	142,3	106,2
ε	172,2	–171,9	176,4	–170,2	176,8	–173,9	178,2	–175,7
l, Å	1,467	1,502	1,451	1,479	1,463	1,423	1,450	1,421

для TS_4. Проте оцінки методами фізико-хімічної кінетики показують, що їхній час життя надто малий, а реалізуються вони дуже повільно у порівнянні з часом, який витрачає ДНК-полімераза на елементарний акт біосинтезу [28, 29], щоб бути відповідальними за появу відповідних транзицій.

Таким чином, наведені вище результати та їхній аналіз дозволяють стверджувати, що іонізаційний механізм виникнення транзицій не гарантує жодних переваг порівняно з іншими механізмами, представленими в літературі [1–5], якщо навіть не брати до уваги його найвразливіше місце, бо немає переконливих фізико-хімічних обґрунтувань протонування/депротонування нуклеотидних основ у суттєво гідрофобному активному центрі ДНК-полімерази.

Окрім того (і це не менш суттєво, ніж викладене вище), протонування/депротонування основ у складі будь-якого канонічного нуклеозиду суттєво збурює ДНК-подібні конформації останнього – як власне конформацію цукрового залишку, так і орієнтацію основи відносно останнього (табл. 3). Це є додатковим аргументом, що може вказувати на неадекватність іонізаційного механізму спонтанних транзицій, оскільки високоточна реплікативна ДНК-полімераза контролює у процесі синтезу не лише геометричні розміри пар основ ДНК, а й конформацію цукрових залишків [30].

Насамкінець автори висловлюють щиру вдячність співробітникам Інституту теоретичної фізики ім. М. М. Боголюбова НАН України за люб'язно надані програмне забезпечення та обчислювальні ресурси.

O. O. Brovarets'[1, 2], *R. O. Zhurakivsky*[1], *D. M. Hovorun*[1, 2]

Is there adequate ionization mechanism of the spontaneous transitions? Quantum-chemical investigation

[1]Institute of Molecular Biology and Genetics NAS of Ukraine
150, Akademika Zabolotnogo Str., Kyiv, Ukraine, 03680

[2]Institute of High Technologies, Taras Shevchenko National University of Kyiv
Pr. Akademika Hlushkova 2, korp.5, Kyiv, 03127, Ukraine

Summary

Aim. *To investigate theoretically the adequacy of the ionization mechanism of the spontaneous transitions appearance, using simple molecular models – DNA base pairs, one of which is ionized, and electroneutral and ionized DNA-like conformers of canonical nucleosides.* ***Methods***. *Non-empirical quantum chemistry, physicochemical kinetics and analysis of the electron density by means of Bader's atoms in molecules (AIM) theory were used.* ***Results***. *It is established at base pairs that the ionization mechanism of transitions origin doesn't imply any advantages in comparison with other mechanisms described in literature. However, the protonation/deprotonation of base in any canonical nucleoside significantly perturbs DNA-like conformations of the latter.* ***Conclusions***. *The ionization mechanism can't explain entirely the nature of the spontaneous transitions.*

Keywords: spontaneous transitions, ionization mechanism, mismatched DNA base pairs, hydrogen bonds, quantum-chemical calculations.

О. А. Броварец, Р. А. Жураковский, Д. Н. Говорун

Адекватен ли ионизационный механизм спонтанных транзиций? Квантово-химическое исследование

Резюме

Цель. *Используя простые молекулярные модели – пары оснований ДНК, одно из которых является ионизированным, а также электронейтральные и ионизированные ДНК-подобные конформеры канонических нуклеозидов, теоретически исследовать адекватность ионизационного механизма возникновения спонтанных транзиций.* ***Методы***. *Неэмпирическая квантовая химия, физико-химическая кинетика, анализ топологии электронной плотности по Бейдеру.* ***Результаты***. *Показано, что на уровне пар оснований ионизационный механизм возникновения транзиций не гарантирует никаких преимуществ по сравнению с другими механизмами, представленными в литературе. Однако протонирование/депротонирование оснований в составе любого канонического нуклеозида существенно изменяет ДНК-подобные конформации последнего.* ***Выводы***. *Ионизационный механизм не может претендовать на исчерпывающее объяснение природы спонтанных транзиций.*

Ключевые слова: спонтанные транзиции, ионизационный механизм, неправильные пары оснований ДНК, водородные связи, квантово-химические расчеты.

ПЕРЕЛІК ЛІТЕРАТУРИ

1. *Echols H., Goodman M. F.* Fidelity mechanisms in DNA replication // Annu. Rev. Biochem.–1991.–**60**.–P. 477–511.
2. *Goodman M. F., Creighton S., Bloom L. B., Petrushka J.* Biochemical basis of DNA replication fidelity // Crit. Rev. Biochem. Mol. Biol.–1993.–**28**, N 2.–P. 83–126.
3. *Watson J. D., Crick F. H. C.* The structure of DNA // Cold Spring Harbor Symp. Quant. Biol.–1953.–**18**.–P. 123–131.
4. *Topal M. D., Fresco J. R.* Complementary base pairing and the origin of substitution mutations // Nature.–1976.–**263**, N 5575.–P. 285–289.
5. *Sinha N. K., Haimes M. D.* Molecular mechanisms of substitution mutagenesis. An experimental test of the Watson-Crick and Topal-Fresco models of base mispairings // J. Biol. Chem.–1981.–**256**, N 20.–P. 10671–10683.
6. *Sowers L. C., Shaw B. R., Veigl M. L., Sedwick W. D.* DNA base modification: ionized base pairs and mutagenesis // Mutat. Res.–1987.–**177**, N 2.–P. 201–218.
7. *Lawley P. D., Brookes P.* Ionization of DNA bases or base analogues as a possible explanation of mutagenesis, with special reference to 5-bromodeoxyuridine // J. Mol. Biol.–1962.–**4**, N 3.–P. 216–219.

8. *Brovarets' O. O., Hovorun D. M.* The novel physico-chemical mechanism of the Watson-Crick base pair Ade Thy transformation to the mispairs involving rare tautomers Ade* Thy and Ade Thy* // Ukr. Bioorg. Acta.–2010.–**9**, N 1.–P. 3–9.
9. *Brovarets' O. O., Hovorun D. M.* Quantum-chemical investigation of tautomerization ways of Watson-Crick DNA base pair guanine cytosine // Ukr. Biochem. J.–2010.–**82**, N 3.–P. 55–60.
10. *Brovarets' O. O., Hovorun D. M.* Physicochemical mechanism of the wobble DNA base pairs Gua Thy and Ade Cyt transition into the mismatched base pairs Gua* Thy and Ade Cyt* formed by the mutagenic tautomers // Ukr. Bioorg. Acta.–2009.–**8**, N 2.–P. 12–18.
11. *Brovarets' O. O., Hovorun D. M.* Quantum chemical investigation of the basic molecular mechanisms of the pyrimidine-pyrine transversions // Ukr. Biochem. J.–2010.–(in press).
12. *Brovarets' O. O., Hovorun D. M.* How stable are the mutagenic tautomers of DNA bases? // Biopolym. Cell.–2010.–**26**, N 1.–P. 72–76.
13. *Brovarets' O. O., Hovorun D. M.* Stability of mutagenic tautomers of uracil and its halogen derivatives: the results of quantum-mechanical investigation // Biopolym. Cell.–2010.–**26**, N 4.–P. 295–298.
14. *Nedderman A. N. R., Stone M. J., Williams D. H., Lin P. K. Th., Brown D. M.* Molecular basis for methoxyamine-initiated mutagenesis: ^{1}H nuclear magnetic resonance studies of oligonucleotide duplexes containing base-modified cytosine residues // J. Mol. Biol.–1993.–**230**, N 3.–P. 1068–1076.
15. *Fazakerley G. V., Gdaniec Z., Sowers L. C.* Base-pair induced shifts in the tautomeric equilibrium of a modified DNA base // J. Mol. Biol.–1993.–**230**, N 1.–P. 6–10.
16. *Dewar M. J. S., Storch D. M.* Alternative view of enzyme reactions // Proc. Nat. Acad. Sci. USA.–1985.–**82**, N 8.–P. 2225–2229.
17. *Petrushka J., Sowers L. C., Goodman M. F.* Comparison of nucleotide interactions in water, proteins, and vacuum: model for DNA polymerase fidelity // Proc. Nat. Acad. Sci. USA.–1986.–**83**, N 6.–P. 1559–1562.
18. *Peng C., Schlegel H. B.* Combining synchronous transit and quasi-newton methods to find transition states // Israel J. Chem.–1993.–**33**, N 4.–P. 449–454.
19. *Peng C., Ayala P. Y., Schlegel H. B., Frisch M. J.* Using redundant internal coordinates to optimize equilibrium geometries and transition states // J. Comput. Chem.–1996.–**17**, N 1.–P. 49–56.
20. *Boys S. F., Bernardi F.* The calculation of small molecular interactions by the differences of separate total energies. Some procedures with reduced errors // Mol. Phys.–1970.–**19**, N 4.–P. 553–566.
21. *Frisch M. J., Trucks G. W., Schlegel H. B., Scuseria G. E., Robb M. A., Cheeseman J. R., Montgomery Jr., J. A., Vreven T., Kudin K. N., Burant J. C., Millam J. M., Iyengar S. S., Tomasi J., Barone V., Mennucci B., Cossi M., Scalmani G., Rega N., Petersson G. A., Nakatsuji H., Hada M., Ehara M., Toyota K., Fukuda R., Hasegawa J., Ishida M., Nakajima T., Honda Y., Kitao O., Nakai H., Klene M., Li X., Knox J. E., Hratchian, H. P., Cross J. B., Bakken V., Adamo C., Jaramillo J., Gomperts R., Stratmann R. E., Yazyev O., Austin A. J., Cammi R., Pomelli C., Ochterski J. W., Ayala P. Y., Morokuma K., Voth G. A., Salvador P., Dannenberg J. J., Zakrzewski V. G., Dapprich S., Daniels A. D., Strain M. C., Farkas O., Malick D. K., Rabuck A. D., Raghavachari K., Foresman J. B., Ortiz J. V., Cui Q., Baboul A. G., Clifford S., Cioslowski J., Stefanov B. B., Liu G., Liashenko A., Piskorz P., Komaromi I., Martin R. L., Fox D. J., Keith T., Al-Laham M. A., Peng C. Y., Nanayakkara A., Challacombe M., Gill P. M. W., Johnson B., Chen W., Wong M. W., Gonzalez C., Pople J. A.* Gaussian 03, Revision C.02.–Wallingford CT: Gaussian Inc., 2004.
22. *Bader R. W. F.* Atoms in molecules. A quantum theory.–Oxford: Clarendon press, 1990.–436 p.
23. *Vodorodnaya* svyaz' // Red. N. D. Sokolov, V. M. Chulanovskiy.–M.: Nauka, 1964.–340 s.
24. *Biegler-Konig F., Schonbohm J., Bayles D.* Software news and updates. AIM2000 – a program to analyze and visualize atoms in molecules // J. Comput. Chem.–2001.–**22**, N 5.–P. 545–559.
25. *Danilov V. I., van Mourik T., Kurita N., Wakabayashi H., Tsukamoto T., Hovorun D. M.* On the mechanism of the mutagenic action of 5-bromouracil: a DFT study of uracil and 5-bromouracil in a water cluster // J. Phys. Chem. A.–2009.–**113**, N 11.–P. 2233–2235.
26. *Espinosa E., Molins E., Lecomte C.* Hydrogen bond strengths revealed by topological analyses of experimentally observed electron densities // Chem. Phys. Lett.–1998.–**285**, N 3–4.–P. 170–173.
27. *Iogansen A. V.* Direct proportionality on the hydrogen bonding energy and the intensification of the stretching ν(XH) vibration in infrared spectra // Spectrochim. Acta., Part A.–1999.–**55**, N 7–8.–P. 1585–1612.
28. *Tang M., Shen X., Frank E. G., O'Donnell M., Woodgate R., Goodman M. F.* $UmuD_2$' C is an error-prone DNA polymerase, *Escherichia coli* pol V // Proc. Nat. Acad. Sci. USA.–1999.–**96**, N 16.–P. 8919–8924.
29. *Kornberg A., Baker T.* DNA replication / Eds W. H. Freeman.–New York: Acad. press, 1992.–871 p.
30. *Beard W. A., Wilson S.* Structural insights into DNA polymerase β fidelity: hold tight if you want it right // Chem. and Biol.–1998.–**5**, N 1.–P. R7–R13.
31. *Saenger W.* Principles of nucleic acid structure.–New York: Springer, 1988.–584 p.

UDC 577.3
Received 21.07.10